

これらも透析・濾過によって排除されてしまう。

薬物代謝酵素系や細胞膜上のチャンネルタンパク質は分子種群をなし、新しい分子が続々と遺伝子レベルで同定されている。これらの機能性タンパク質は、それぞれ異なった基質特異性を有するので肝・腎不全の病態を改善するために必要な分子種を選び出すことができる。絵野沢グループでは再構成された人工合成膜であるナノ代謝代替デバイスに生きた細胞のように統合した選択的・能動輸送を行わせ、人工透析を行うことを目標としている。

絵野沢グループの研究では理想的な血液浄化は生体が行っているように毒性物質のみを選択的に取り除くシステムであるという発想の元に計画されたものである。

生体反応の多くは正の自由エネルギー変化を示し、その多くは ATP の加水分解と共役して起こる。ナノ生化学系による非細胞性代謝機能代替デバイスの開発におけるタンパク質-人工基材が複合した機能性膜を動かすためにも ATP の供給が必須である。

ATP 供給系は実際今までに幾つか確立されている。しかしながらそれらは非常に高価な高エネルギーリン酸結合の化合物を利用しており、しかも不安定な低分子である。ポリリン酸は ATP と同様の高エネルギーリン酸結合によって結合した無機ポリマーである(図1)。ポリリン酸はリン酸を加熱すると合成できる最も単純で、非常に安価な高エネルギーリン酸化合物である。ポリリン酸は多くの生物から検出されるものの、長い間分子生物学的な解析は行われてこなかった。しかし 1990 年代に入って、ポリリン酸合成酵素の遺伝子(*ppk*)

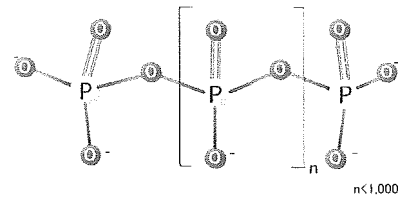


図1、ポリリン酸の構造

がスタンフォード大学の Arthur Kornberg 研究室でクローニングされ、分子生物学的な解析が進みだした。その結果、ポリリン酸を作れない大腸菌変異株は、定常期に死滅しやすかったり、また緑膿菌の *ppk* 変異株では、運動性が悪く、感染力が低下することが分かってきた。ポリリン酸は、特にバクテリアが過酷な環境になった時に必要であることが分かってきた。ポリリン酸は生命エネルギーの塊でもあることから、うまくすれば非常に安価な ATP の代替として働かせることができる魅力的な分子でもある。大腸菌のポリリン酸合成酵素は、ATP の末端のリン酸基をポリリン酸に転移して約 700 個のリン酸がつながったポリリン酸を合成する。また逆に過剰のポリリン酸と ADP が存在すると、大腸菌のポリリン酸合成酵素は ATP を生産する(図2)。

数十から 100 個程度のリン酸が結合したポリマーのポリリン酸は、マグネシウムやカルシウムが存在すると直径数マイクロmの顆粒を形成する。昨年度の研究でこのポリリン酸顆粒が ATP の供給源になりうるということがわかった。またこのポリリン酸顆粒は半透膜を通り抜けることがないので、タンパク質-人工基材が複合した機能性膜を動かすための ATP 供給源になり得ると思われた(図3)。そのためには可溶性のポリリン酸として溶け出さない、より安定なポリリン酸顆粒が必要となる。し

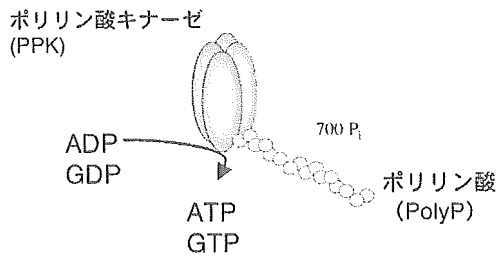


図2, ポリリン酸合成酵素

かし、人工的に試験管内で調整したポリリン酸顆粒は非常に溶けやすく、すぐに可溶性のポリリン酸となって半透膜を通り抜けしまい、安定した ATP の供給が出来ない恐れがある。一方、大腸菌などの生体内から単離したポリリン酸顆粒は比較的安定であることがわかっている。そこで、本研究では生体内で調整される安定なポリリン酸顆粒をモデルにして、試験管内でより安定なポリリン酸顆粒を調整する系の確立を目指した。

## B. 研究方法

### 1) 試験管内でのポリリン酸顆粒の調整

50 mMの可溶性ポリリン酸（平均鎖長 65、

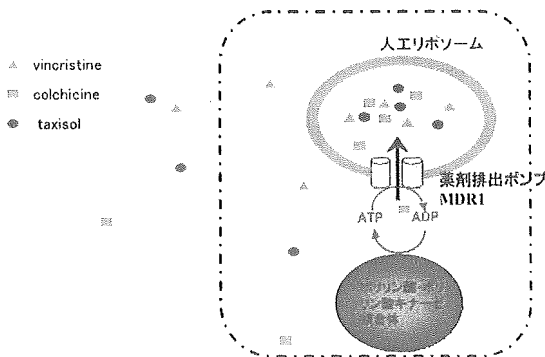


図3, 本研究の目標の概念図

phosphate glass, シグマ社) と任意の濃度の KCl, MgCl<sub>2</sub> を最終容量 50 マイクロ l になるよ

うに混合し、遠心 (12,000g, 5min) により沈殿させた。顆粒調製時と同じ濃度のカリウム-マグネシウム溶液で沈殿を 3 回洗浄し、X線分析装置 (JED-2200, 日本電子) を用いて原子組成を検討した。また、CaCl<sub>2</sub> を加えた場合についても同様に調製し原子組成を検討した。

### 2) 試験管内で調製したポリリン酸顆粒の安定性試験

試験管内で調製したポリリン酸顆粒に 100 mM HEPES-NaOH (pH 7.5) を 100 マイクロ l 加えて室温で静置した。一定時間経過後、すべての上清を別のチューブにとって 2M 塩酸を加え、100°C で 7 分間加熱して溶出したポリリン酸をリン酸まで加水分解した。同様に溶け残ったポリリン酸顆粒もリン酸まで加水分解した。モリブデンブルー法によりそれぞれのリン酸濃度を測定し、リン酸単位でのポリリン酸量を算出した。以下の式から溶出率を算出し、安定性を評価する指標とした。

### 3) DNA 結合タンパク質によるポリリン酸顆粒の安定化

大腸菌の細胞内でポリリン酸顆粒と相互作用する DNA 結合タンパク質として、Fis, HU α, HU β, HimA, HimD, HimAD を用いた。試験管内で調製したポリリン酸顆粒に、10 マイクロ M DNA 結合タンパク質を含む 100 mM HEPES-NaOH(pH 7.5) を 30 マイクロ l 加えて室温で 10 分間静置した。安定性試験の場合と同

$$\text{溶出率(\%)} = \frac{\text{溶出ポリリン酸}}{\text{溶出ポリリン酸} + \text{残存ポリリン酸顆粒}} \times 100$$

様に、上清中と溶け残った顆粒のポリリン酸量をそれぞれ測定した。溶出率を算出し、各

DNA 結合タンパク質の安定化効果を検討した。

#### 4) ポリアミンによるポリリン酸顆粒の安定化

添加するポリアミンとして大腸菌の細胞内で存在が確認されているプトレッシン、スペルミジン、カダベリンを用いた。基本的な方法は DNA 結合タンパク質の場合と同様で、各ポリアミンを 0, 2, 5, 10, 20 mM の濃度で添加した場合における安定化効果を検討した。また、大腸菌の細胞内にフリーに存在するポリアミン濃度である 12.5 mM プトレッシン、0.26 mM スペルミジンを添加した場合の溶出率を同様の方法で経時的に測定した。

### C. 研究結果

#### 1) 試験管内で調整したポリリン酸顆粒の分析

大腸菌の *phoU* 変異株から単離したポリリン酸顆粒のリン：カリウム：マグネシウムの比は 1:0.19:0.31 であることがわかっている。そこで、これと類似したポリリン酸顆粒を試験管内で調整するために、可溶性のポリリン酸と任意の濃度の KCl, MgCl<sub>2</sub> を混合してポリリン酸顆粒を調整し、X線分析により原子組成を検討した。その結果、57 mM KCl, 39 mM MgCl<sub>2</sub> を混合したときに大腸菌から調整したポリリン酸顆粒と類似した組成（リン：カリウム：マグネシウム = 1 : 0.18 : 0.34）になることがわかった（図4）。また酵母から単離したポリリン酸顆粒にはカルシウムが含まれていることから、CaCl<sub>2</sub>を加えた場合についても同様に検討した結果、336 mM KCl, 35 mM

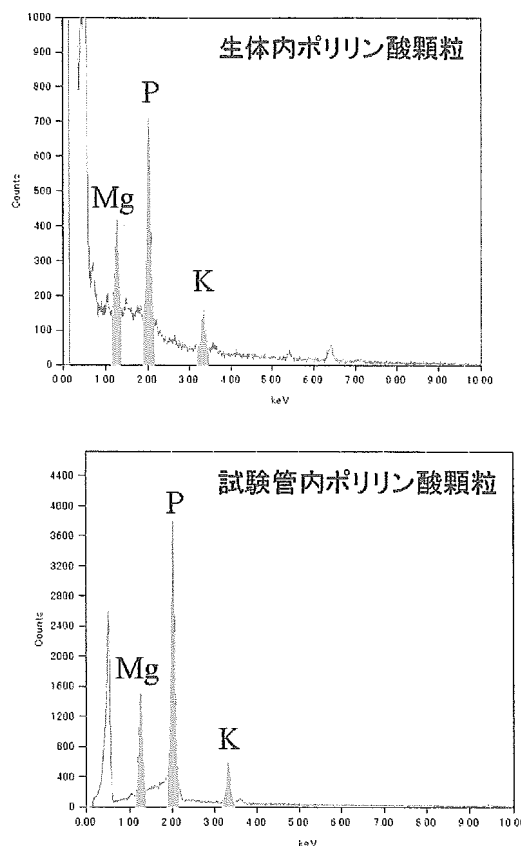


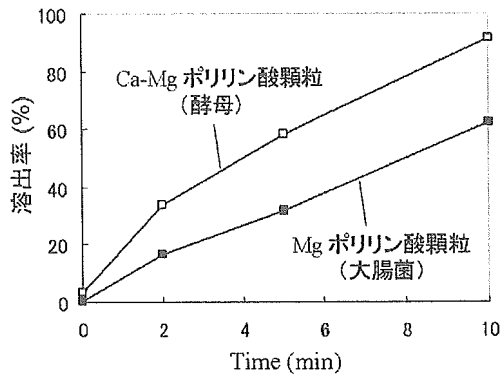
図4, ポリリン酸顆粒の分析

MgCl<sub>2</sub>, 3 mM CaCl<sub>2</sub> を混合したときに酵母から調製したポリリン酸顆粒と類似した組成（リン：カリウム：マグネシウム：カルシウム = 1 : 0.66 : 0.24 : 0.05）になることがわかった。

#### 2) 試験管内で調製したポリリン酸顆粒の安定性

試験管内で調製したポリリン酸顆粒の安定性を検討した。その結果、大腸菌由来のものと同様の組成のポリリン酸顆粒は10分間で約50%が溶出しており非常に不安定であることがわかった（図5）。しかし、酵母のものと同様の組成のポリリン酸顆粒と比較すると若干安定であったことから、以降の実験には大腸菌由来の顆粒と同様の組成のポリリン酸顆

粒を用いた。



### 3) DNA 結合タンパク質によるポリリン酸顆粒の安定化

幾つかの DNA 結合タンパク質は、大腸菌の細胞内でポリリン酸顆粒と同じ位置に局在する (図6)。そのため、そのような性質を持つ DNA 結合タンパク質がポリリン酸顆粒に結合して安定化させる効果を持つことが期待された。そこで、それらの DNA 結合タンパク質を精製し、ポリリン酸顆粒の安定性試験の際の溶出バッファーに添加してその効果を検討した。その結果、Fis や HimD など若干の効果が見られたが、大幅にポリリン酸の溶出を抑える効果があるものは見つからなかった (図7)。

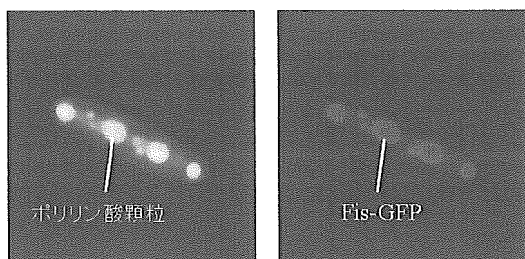
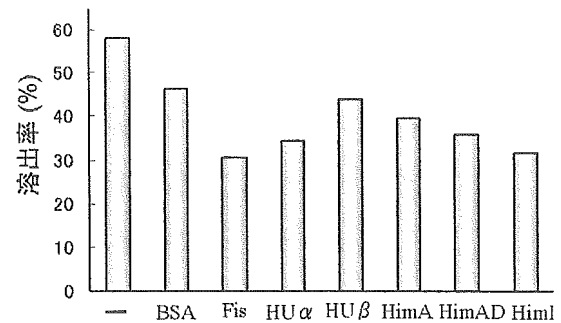


図6, ポリリン酸顆粒と同じ位置に局在する DNA 結合タンパク質

### 4) ポリアミンによるポリリン酸顆粒の安定化

ポリアミン (図8) は生体内に多量に存在する塩基性の物質で、リン酸基を持つ化合物と強く結合することが知られている。そこで、ポリリン酸



顆粒 図7, DNA 結合タンパク質による安定化効果の安定性試験の際の溶出バッファーにポリアミンを添加してその安定化効果を検討した。添加するポリアミンとして大腸菌の細胞内で存在が確認されているプトレッシン、スペルミジン、カダベリンを用いた。その結果、いずれの種類のパリアミンでも非常に強い安定化効果が見られた (図9)。また、大腸菌内でフリーに存在しているといわれているポリ

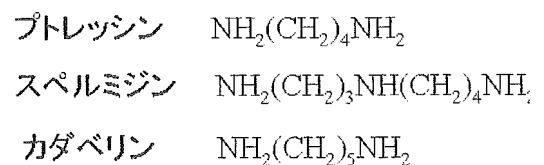


図8, ポリアミンの構造

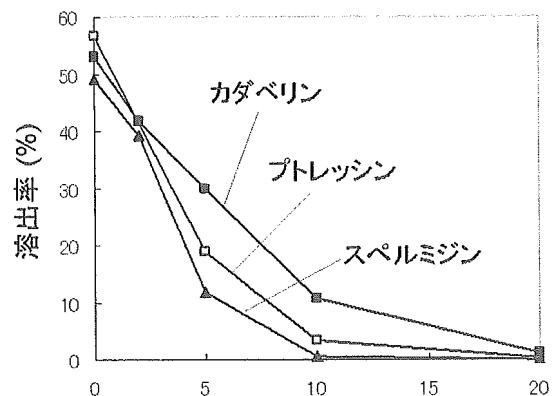


図9, ポリアミンによる安定化効果

アミン濃度 (12.5 mM プトレッシン+0.26

mM スペルミジン) で調整し、ポリリン酸顆粒からのポリリン酸の溶出を経時的に観察した(図10)。その結果、生体内の条件において、ポリアミンがポリリン酸顆粒を安定化することが分かった。

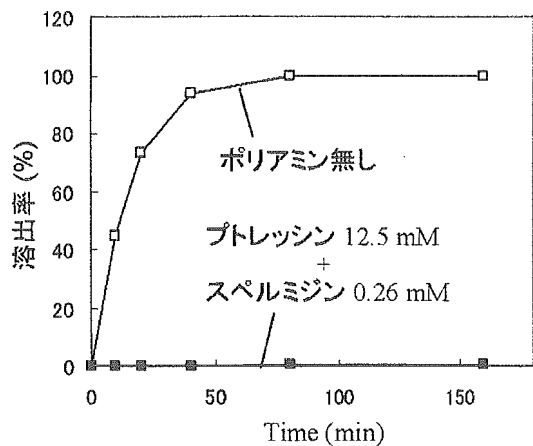


図10, 生理的ポリアミン濃度における安定化効果

## E. 結論

タンパク質-人工基材が複合した機能性膜を動かすためにも ATP の供給が必須である。本年度は ATP の供給源としてポリリン酸顆粒を安定に存在させるための基盤研究を行った。数十から 100 個程度のリン酸が結合したポリマーのポリリン酸は、マグネシウムやカルシウムが存在すると直径数マイクロmの顆粒を形成する。昨年度の研究でこのポリリン酸顆粒が ATP の供給源になりうるということがわかった。また、このポリリン酸顆粒は半透膜を通り抜けることがないので、タンパク質-人工基材が複合した機能性膜を動かすための ATP の供給源になり得ると思われた。しかし、試験管内で調整したポリリン酸顆粒はすぐに可溶性のポリリン酸となって流出してしまうことから、安定した ATP 供給が出来ない恐れがある。一方、大腸菌などから単離したポリリ

ン酸顆粒は水を加えてもほとんど溶出せずに安定に存在する。そこで、本研究では生体内で調整される安定なポリリン酸顆粒をモデルにして、試験管内でより安定なポリリン酸顆粒を調整する系の確立を目指した。具体的には大腸菌から単離されたポリリン酸顆粒と同様の組成のポリリン酸顆粒を試験管内で調整し、そこに大腸菌の細胞内で顆粒の安定化に関与していると思われる物質を添加してその効果を検討した。その結果、生体内に多量に存在する塩基性物質であるポリアミンがポリリン酸顆粒の安定化に非常に効果があることが明らかとなった。またその効果は大腸菌内にフリーに存在するといわれているポリアミン濃度でも十分に見られた。ポリアミンによるポリリン酸顆粒の安定化効果が生体内でも起こり得ることを初めて示した。

## F. 健康危険情報

該当なし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Akio Kuroda, A Polyphosphate-Lon Protease Complex in the Adaptation of Escherichia colito Amino Acid Starvation, Biosci. Biotechnol. Biochem, in press
- 2) 黒田章夫、滝口 昇、加藤純一、大竹久夫、リン資源枯渇の危機予測とそれに対応したリン有効利用技術開発、環境バイオテクノロジー学会誌、Vol. 4, 87-94 (2005)

### 2. 学会発表

- 1) 黒田章夫、微生物ポリリン酸研究の新展開、日本農芸化学会、平成 17 年 3 月 28 日

2)黒田章夫、微生物によるポリリン酸蓄積機構の解明と利用、さきがけライブ、平成 17 年 12 月 10 日

国立大学法人広島大学  
大腸菌を用いたリン酸化反応方法

H. 知的財産権の出願・登録状況

特願 2005-341514 発明者 黒田章夫、出願人

研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト

書籍

著者名	論文タイトル	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Sato T, Diedrich A, Sunagawa K	Bionic Baroreflex	Robertson D et al	Primer on the autonomi c nervous system. 2nd ed.	Elsevier Academi c Press	USA	2004	423-42 5
西澤松彦	医療用バイオ マイクロ燃料 電池への取り 組み	(有)ブッカーズ	電池革 新が拓 く次世 代電源	エヌ・ ティー ・エス	東京 都	2005	73- 82
馬越 大, 森田誠一, 久保井亮 一	8章5節 リ ポソームの 固定化	秋吉一成、辻井 薫	リポ ソーム 応用の 新展開	エヌ・ ティー ・エス	東京	2005	415-42 4
大政健史	マイクロリア クタを用いた 薬物代謝系の 構築	(有)ブッカーズ	マイク ロリア クタテ クノー ロジー - 限りな い可能 性と課 題-	エヌ・ ティー ・エス	東京	2005	343-35 3
大政健史	182 細胞大量 培養	松島綱治、酒井敏 行、石川昌、稲寺 秀邦	予防医 学事典	朝倉書 店	東京	2005	413-41 5
大政健史	I編1.4 動物 資源	日本生物工学会	生物工 学ハン ドブッ ク	コロナ 社	東京	2005	39-45
大政健史	4編4-2-6 フ ローサイトメ トリーとその 利用	日本生物工学会	生物工 学ハン ドブッ ク	コロナ 社	東京	2005	242-24 4
松尾道憲 植田和光	抗がん剤耐 性から生活 習慣病まで	植田和光	ABC蛋 白質	学会出 版セン ター	東京	2005	219-24 4

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Michikami D, Kamiya A, Kawada T, Inagaki M, Shishido T, Yamamoto K, Ariumi H, Iwase S, Sugenoya J, Sunagawa K, Sugimachi M	Short-term electroacupuncture at Zusanli resets the arterial baroreflex neural arc toward lower sympathetic nerve activity.	Am J Physiol Heart Circ Physiol		In press	2006
Uemura K, Kamiya A, Hidaka I, Kawada T, Shimizu S, Shishido T, Yoshizawa M, Sugimachi M, Sunagawa K.	Automated drug delivery system to control systemic arterial pressure, cardiac output, and left heart filling pressure in acute decompensated heart failure.	J Appl Physiol		In press	2006
Kawada T, Yamazaki T, Akiyama T, Li M, Ariumi H, Mori H, Sunagawa K, Sugimachi M.	Vagal stimulation suppresses ischemia-induced myocardial interstitial norepinephrine release.	Life Sci	78	882-887	2006
Kamiya A, Kawada T, Yamamoto K, Michikami D, Ariumi H, Miyamoto T, Shimizu S, Uemura K, Aiba T, Sunagawa K, Sugimachi M	Dynamic and static baroreflex control of muscle sympathetic nerve activity (SNA) parallels that of renal and cardiac SNA during physiological change in pressure	Am J Physiol Heart Circ Physiol	289	H2641-H 2648	2005
Kamiya A, Hayano J, Kawada T, Michikami D, Yamamoto K, Ariumi H, Shimizu S, Uemura K, Miyamoto T, Aiba T, Sunagawa K, Sugimachi M	Low-frequency oscillation of sympathetic nerve activity decreases during development of tilt-induced syncope preceding sympathetic withdrawal and bradycardia.	Am J Physiol Heart Circ Physiol	289	H1758-H 1769,	2005
Yamamoto K, Kawada T, Kamiya A, Takaki H, Sugimachi M, Sunagawa K	Static interaction between muscle mechanoreflex and arterial baroreflex in determining efferent sympathetic nerve activity	Am J Physiol Heart Circ Physiol	289	H1604-H 1609	2005
Kamiya A, Kawada T, Yamamoto K, Michikami D, Ariumi H, Miyamoto T,	Muscle sympathetic nerve activity averaged over 1 minute parallels renal and cardiac sympathetic nerve activity in response to a forced baroreceptor pressure change	Circulation	112	384-386	2005



Uemura K, Sugimachi M, Sunagawa K					
Kawada T, Yamazaki T, Akiyama T, Shishido T, Mori H, Sugimachi M	Myocardial interstitial choline and glutamate levels during acute myocardial ischaemia and local ouabain administration.	Acta Physiol Scand	184	187-193	2005
Uemura K, Kawada T, Kamiya A, Aiba T, Hidaka I, Sunagawa K, Sugimachi M.	Prediction of circulatory equilibrium in response to changes in stressed blood volume.	Am J Physiol Heart Circ Physiol	289	301-307	2005
Kamiya A, Kawada T, Yamamoto K, Michikami D, Ariumi H, Uemura K, Zheng C, Shimizu S, Aiba T, Miyamoto T, Sugimachi M, Sunagawa K	Resetting of the arterial baroreflex increases orthostatic sympathetic activation and prevents postural hypotension in rabbits	J Physiol	566	237-246	2005
Kawada T, Yamamoto K, Kamiya A, Ariumi H, Michikami D, Shishido T, Sunagawa K, Sugimachi M.	Dynamic characteristics of carotid sinus pressure-nerve activity transduction in rabbits.	Jpn J Physiol	55	157-163	2005
Suzuki S, <u>Takaki H</u> , Yasumura Y, Sakuragi S, Takagi S, Tsutsumi Y, Aihara N, Sakamaki F, Goto Y.	Assessment of quality of life with 5 different scales in patients participating in comprehensive cardiac rehabilitation after acute myocardial infarction.	Circ J	69	1527-1534	2005
Iwanaga Y, Nishi I, Ono K, Takagi S, Tsutsumi Y, Ozaki M, Noguchi T, <u>Takaki H</u> , Iwai N, Nonogi H, Goto Y.	Angiotensin-converting enzyme genotype is not associated with exercise capacity or the training effect of cardiac rehabilitation in patients after acute myocardial infarction.	Circ J	69	1315-1319, 2005	2005
Yamamoto K, Kawada T, Kamiya A, <u>Takaki H</u> , Sugimachi M, Sunagawa K.	Static interaction between muscle mechanoreflex and arterial baroreflex in determining efferent sympathetic nerve activity.	Am J Physiol Heart Circ Physiol	289	H1604-H1609	2005
<u>Takaki H</u> , Sakuragi S, Nagaya N, Suzuki S, Goto Y, Sato T, Sunagawa K.	Postexercise $VO_2$ "Hump" phenomenon as an indicator for inducible myocardial ischemia in patients with acute anterior myocardial infarction.	Int J Cardiol.		in press	2005
Tahara N, <u>Takaki H</u> , Taguchi A,	Pronounced HR variability after exercise in inferior ischemia:	Am J Physiol Heart Circ	288	H1179-H1185	2005

Suyama K, Kurita T, Shimizu W, Miyazaki S, Kawada T, Sunagawa K.	evidence that the cardioinhibitory vagal reflex is invoked by exercise-induced inferior ischemia.	Physiol			
Satomi K, Shimizu W, Takaki H, Suyama K, Kurita T, Aihara N, Kamakura S	Response of beat-by-beat QT variability to sympathetic stimulation in the LQT1 form of congenital long QT syndrome.	Heart Rhythm	2	149-154	2005
Yamasaki F, Ushida T, Yokoyama T, Ando M, Yamashita K, Sato T.	Artificial baroreflex: Clinical application of a bionic baroreflex system.	Circulation	113	634-639	2006
Ando M, Katare RG, Kakinuma Y, Zhang D, Yamasaki F, Muramoto K, Sato T.	Efferent vagal nerve stimulation protects heart against ischemia-induced arrhythmias by preserving connexin43 protein.	Circulation	112	164-170	2005
Yamasaki F, Furuno T, Sato K, Zhang D, Nishinaga M, Sato T, Doi Y, Sugiura T.	Association between arterial stiffness and platelet activation.	J Hum Hypertens	19	527-533	2005
Kakinuma Y, Ando M, Kuwabara M, Katare RG, Okudela K, Kobayashi M, Sato T.	Acetylcholine from vagal stimulation protects cardiomyocytes against ischemia and hypoxia involving additive nonhypoxic induction of HIF-1 $\alpha$ .	FEBS Lett	579	2111-2118	2005
Kudo Y, Kakinuma Y, Mori Y, Morimoto N, Karashima T, Furihata M, Sato T, Shuin T, Sugiura T.	HIF-1 $\alpha$ is involved in the attenuation of experimentally induced rat glomerulonephritis.	Nephron Exp Nephrol	100	e95-e103	2005
佐藤隆幸	バイオニック動脈圧反射による血圧コントロール	循環器科	58	600-605	2005
Michikami D, Kamiya A, Kawada T, Inagaki M, Shishido T, Yamamoto K, Ariumi H, Iwase S, Sugenoja J, Sunagawa K, Sugimachi M	Short-term electroacupuncture at Zusanli resets the arterial baroreflex neural arc toward lower sympathetic nerve activity.	Am J Physiol Heart Circ Physiol		In press	2006
Uemura K, Kamiya A, Hidaka I, Kawada T, Shimizu	Automated drug delivery system to control systemic arterial pressure, cardiac output, and left heart filling	J Appl Physiol		In press	2006

S, Shishido T, Yoshizawa M, Sugimachi M, Sunagawa K.	pressure in acute decompensated heart failure.				
Kawada T, Yamazaki T, Akiyama T, Li M, Ariumi H, Mori H, Sunagawa K, Sugimachi M.	Vagal stimulation suppresses ischemia-induced myocardial interstitial norepinephrine release.	Life Sci	78	882-887	2006
Kamiya A, Kawada T, Yamamoto K, Michikami D, Ariumi H, Miyamoto T, Shimizu S, Uemura K, Aiba T, Sunagawa K, Sugimachi M.	Dynamic and static baroreflex control of muscle sympathetic nerve activity (SNA) parallels that of renal and cardiac SNA during physiological change in pressure.	Am J Physiol Heart Circ Physiol	289	H2641-H2648	2005
Kamiya A, Hayano J, Kawada T, Michikami D, Yamamoto K, Ariumi H, Shimizu S, Uemura K, Miyamoto T, Aiba T, Sunagawa K, Sugimachi M.	Low-frequency oscillation of sympathetic nerve activity decreases during development of tilt-induced syncope preceding sympathetic withdrawal and bradycardia.	Am J Physiol Heart Circ Physiol	289	H1758-1769	2005
Yamamoto K, Kawada T, Kamiya A, Takaki H, Sugimachi M, Sunagawa K.	Static interaction between muscle mechanoreflex and arterial baroreflex in determining efferent sympathetic nerve activity.	Am J Physiol Heart Circ Physiol	289	H1604-H1609	2005
Kitagawa H, Yamazaki T, Akiyama T, Sugimachi M, Sunagawa K, Mori H.	Microdialysis separately monitors myocardial interstitial myoglobin during ischemia and reperfusion	Am J Physiol Heart Circ Physiol	289	H924-H930	2005
Kamiya A, Kawada T, Yamamoto K, Michikami D, Ariumi H, Miyamoto T, Uemura K, Sugimachi M, Sunagawa K.	Muscle sympathetic nerve activity averaged over 1 minute parallels renal and cardiac sympathetic nerve activity in response to a forced baroreceptor pressure change.	Circulation	112	384-386	2005
Uemura K, Kawada T, Kamiya A, Aiba T, Hidaka I, Sunagawa K, Sugimachi M	Prediction of circulatory equilibrium in response to changes in stressed blood volume.	Am J Physiol Heart Circ Physiol	289	301-307	2005

Sugimachi M, Sunagawa K	Bionic cardiovascular medicine. Functional replacement of native cardiovascular regulation and the correction of its abnormality.	IEEE Eng Biol Med Mag.	24	24-31	2005
Kamiya A, Kawada T, Yamamoto K, Michikami D, Ariumi H, Uemura K, Zheng C, Shimizu S, Aiba T, Miyamoto T, Sugimachi M, Sunagawa K.	Resetting of the arterial baroreflex increases orthostatic sympathetic activation and prevents postural hypotension in rabbits.	J Physiol.	566	237-246	2005
Kawada T, Yamamoto K, Kamiya A, Ariumi H, Michikami D, Shishido T, Sunagawa K, Sugimachi M.	Dynamic characteristics of carotid sinus pressure-nerve activity transduction in rabbits.	Jpn J Physiol	55	157-163	2005
Matsusaka H, Ikeuchi M, Matsushima S, Ide T, Kubota T, Feldman AM, Takeshita A, Sunagawa K, Tsutsui H.	Selective disruption of MMP-2 gene exacerbates myocardial inflammation and dysfunction in mice with cytokine-induced cardiomyopathy.	Am J Physiol Heart Circ Physiol.	289	H1858-1864	2005
Ito K, Hirooka Y, Hori N, Kimura Y, Sagara Y, Shimokawa H, Takeshita A, Sunagawa K.	Inhibition of Rho-Kinase in the Nucleus Tractus Solitarius Enhances Glutamate Sensitivity in Rats.	Hypertension	46	360-365	2005
Kimura Y, Hirooka Y, Sagara Y, Ito K, Kishi T, Shimokawa H, Takeshita A, Sunagawa K	Overexpression of inducible nitric oxide synthase in rostral ventrolateral medulla causes hypertension and sympathoexcitation via an increase in oxidative stress.	Circ Res	96	252-260	2005
Kishi T, Hirooka Y, Masumoto A, Ito K, Kimura Y, Inokuchi K, Tagawa T, Shimokawa H, Takeshita A, Sunagawa K	Rho-kinase inhibitor improves increased vascular resistance and impaired vasodilation of the forearm in patients with heart failure.	Circulation	111	2741-2747	2005
Nishimura S, Yamashita H, Katoh M, Yamada KP, Sunagawa K, Saeki Y, Ohnuki Y, Nagai R, Sugiura S.	Contractile dysfunction of cardiomyopathic hamster myocytes is pronounced under high load conditions	J Mol Cell Cardiol	39	231-239	2005

Kimura Y, Hirooka Y, Sagara Y, Ito K, Kishi T, Shimokawa H, Takeshita A, Sunagawa K	Overexpression of inducible nitric oxide synthase in rostral ventrolateral medulla causes hypertension and sympathoexcitation via an increase in oxidative stress.	Circ Res	96	252-260	2005
久世直樹, 松田慧, 原田浩樹, 石橋功至, 河野隆二	生体の温度上昇評価による体内無線通信方式の検討	電子情報通信学会技術報告 RCS			2006
Kentaro IKEMOTO, Ryuji KOHNO	Maximum Likelihood Estimation of Trellis Encoder and Modulator Transition Utilizing HMM for Adaptive Channel Coding and Modulation Technique	IEICE TRANS.FUNDAMENTALS	E88 -A No. 3	pp.669	2005
Kentaro Taniguchi, Ryuji Kohno	Design and Analysis of Synthesized Template Waveform for Receiving UWB signals	IEICE Transactions on Fundamentals of Electronics, Communications and Computer Sciences	E88 -A No. 9	pp.2299-2309	2005
Craig Mitchell, Giuseppe Abreu and Ryuji Kohno	Adaptive RAKE Receivers with Subspace-based Hadamard-Hermite Template Design for UWB Communications	IEICE TRANS. FUNDAMENTALS	E88 -A, No. 9	pp.2327-2338	2005
K. Ishibashi, H. Ochiai, and R. Kohno	Low complexity bit-interleaved coded DAPSK for Rayleigh fading channels	IEEE Journal on Selected Areas in Communications, Special Issue on Differential and Noncoherent Wireless Communications	23 no.9	pp. 1728-1738	2005
Kouji Ishii, Ryuji Kohno	Space-Time-Frequency Turbo Code over Time-Varying and Frequency-Selective Fading Channel	IEICE TRANS. FUNDAMENTALS	E88 -A No 10	pp.2885-2895	2005

Susu Jiang, Kentaro Ikemoto and Ryuji Kohno	A Differential STBC Integrated with Trellis Coded Modulation	IEICE,	E88 -A, No. 10	pp. 2896-2904	2005
Tomoko Matsumoto and Ryuji Kohno	Performance of SUPER-Orthogonal Convolutional Coding for Ultra-Wideband Systems in Multipath and Multiuser Channels	International Symposium on Wireless Personal Multimedia Communications 2005 (WPMC2005)		pp.955-959	2005
Gabriel Porto Villardi, Giuseppe Thadeu Freitas de Abreu, Ryuji Kohno	An Adaptive Frame-Based Interpolation Method of Channel Estimation for Space-Time Block Codes in Moderate Fading Channels	Proceeding of International Symposium on Wireless Personal Multimedia Communications (WPMC)		pp.863-867	2005
Shumpei Ida and Ryuji Kohno	Non-Linear Swept Chirp Waveforms for UWB Multiple Access Communication and Ranging	International Symposium on Wireless Personal Multimedia Communications 2005 (WPMC'05)		pp.1051-1055	2005
Marie Endo and Ryuji Kohno	Transmission Power Control of UWB-PAN to Avoid Interference in the Presence of both Wireless LAN and PAN	2005 Software Defined Radio Technical Conference and Product Exposition (SDR'05)			2005
Hiroki Harada and Ryuji Kohno	Interference Reduction Using Novel Pulse Set Based on Hermite Polynomials for UWB-WPAN Systems	2005 International Workshop on UWB Technologies (IWUWBT2005)		pp.231-235	2005
松田 慧, 原田浩	人体内通信路における確率論的	電子情報通信学会技術		pp.19-24	2005

樹, 河野隆二	電波伝搬モデルの検討	報 告 WBS2005-59			
F. Sato, M. Togo, M. K. Islam, T. Matsue, J. Kosuge, N. Fukasaku, S. Kurosawa, M. Nishizawa,	Enzyme-Based Glucose Fuel Cell Using Vitamin K <sub>3</sub> -Immobilized Polymer as an Electron Mediator.	Electrochem. Commun.,	7	643-647	2005
太田 圭, 巽 英介, 片桐 伸将, 水野 敏秀, 築谷 朋典, 本間 章彦, 武輪 能明, 妙中 義之, 北村 惣一郎, 松田 智昌, 酒井 一成, 田中 秀典, 佐藤 正喜	ヘパリンコーティング人工肺 Platinim Cube NCVV シリーズの開発の現状 - Platinum Cube NCVV 2000 の慢性動物実験による検討 -	膜型肺	28	48-50	2005
片桐 伸将, 舟久保 昭夫, 築谷 朋典, 巽 英介, 武輪 能明, 妙中 義之, 福井 康裕, 高野 久輝, 北村 惣一郎	中空糸膜充填体モデルを用いた数値流体解析手法による酸素・炭酸ガス移動量推定の検討	膜型肺	28	19-24	2005
Wang N, Tsuruoka S, Yamamoto H, Enosawa S, Omasa T, Sata N, Matsumura T, Nagai H, Fujimura A.	The bioreactor with CYP3A4- and glutamine synthetase-introduced HepG2 cells: treatment of hepatic failure dog with diazepam overdose.	Artif Organs	29 (8)	681-684	2005
Omasa T, Kim K, Hiramatsu S, Katakura Y, Kishimoto M, Enosawa S, Ohtake H.	Construction and evaluation of drug-metabolizing cell line for bioartificial liver support system.	Biotechnology Progress	21	161-167	2005
林 美都子, 絵野 沢 伸.	体外型血液浄化法の現状と人工細胞による非細胞系バイオ人工肝への期待.	Organ Biology	12 (2)	137-145	2005
Omasa T, Kim K, Hiramatsu S, Katakura Y, Kishimoto M, Enosawa S, Ohtake S.	Construction and evaluation of drug-metabolizing cell line for bioartificial liver support system.	Biotechnology Progress	21	161-167	2005

Omasa T, Hayashi T, Onishi S, Hashimoto T, Kishimoto M, Yoshikawa T, Miyake M, Ohtake H.	Development of cell-based simulator system for drug evaluation.	Proceedings of 7th Asia-Pacific Biochemical Engineering Conference 2005, ANI-O3 (APBIOChE C'05)	389	86-89	2005
大政健史	バイオ人工肝臓の評価は如何にあるべきか？	医工学治療	17巻4号	195-201	2005
大政健史	動物細胞培養による物質生産系構築とティッシュエンジニアリングへの応用	日本生物工学会誌	83巻3号	117-122	2005
大政健史	セル&ティッシュエンジニアリング -細胞から臓器までのネットワーク-	日本生物工学会誌	83巻7号	331-333	2005
Toda, Y., Aoki, R., Ikeda, Y., Azuma, Y., Kioka, N., Matsuo, M., Sakamoto, M., Mori, S., Fukumoto, M., and Ueda, K.	Detection of ABCA7-positive cells in salivary glands from patients with Sjogren's syndrome.	Pathol. Int.	55	639-643	2005
Ban, N., Sasaki, M., Sakai, H., Ueda, K., and Inagaki, N.	Cloning of ABCA17, a novel, rodent sperm-specific ATP-binding cassette (ABC) transporter that regulates intracellular lipid metabolism.	Biochem J	389	577-585	2005
Hayashi, M., Abe-Dohmae, S., Okazaki, M., Ueda, K., and Yokoyama, S.	Heterogeneity of High Density Lipoprotein Generated by ABCA1 and ABCA7.	J Lipid Res	46	1703-1711	2005
Arakawa, R., Tamehiro, N., Nishimaki-Mogami, T., Ueda, K., and Yokoyama, S.	Fenofibric acid, an active form of fenofibrate, increases apolipoprotein A-I-mediated high-density lipoprotein biogenesis by enhancing transcription of ATP-binding cassette transporter A1 gene in a liver X receptor-dependent manner.	Arterioscler Thromb Vasc Biol	25	1193-1197	2005
Takahashi, K., Kimura, Y., Nagata, K., Yamamoto, A., Matsuo, M. and Ueda, K.	ABC proteins, key molecules for lipid homeostasis.	Medical Molecular Morphology	38	2-12	2005
Matsuo, M., Kimura, Y., and Ueda, K.	K <sub>ATP</sub> channel interaction with adenine nucleotides.	J. Mol. Cell. Cardiol.	38	907-916	2005



木村泰久、松尾道憲、植田和光	ABCトランスポーター研究の動向 - ABC蛋白質の進化と多剤耐性	癌治療と宿主	17	105-109	2005
小林綾、木村泰久、松尾道憲、植田和光	創薬ターゲットとしてのABCタンパク質	日薬理誌 (Folia Pharmacol. Japan)	125	185-193	2005
植田和光	ABC蛋白質—トランスポーター型、チャンネル型、受容体型	Surgery Frontier	12	55-57	2005
植田和光、高橋圭、小林綾、松尾道憲	脂質輸送とABCタンパク質	実験医学	23	842-846	2005
Wakaumi M, Tsuruoka S, Sakamoto K, Shiga T, Fujimura A.	Pilsicainide in breastmilk from a mother: comparison with two other anti-arrhythmic drugs..	Br J Clin Pharmacol	59	120-122	2005
Watanabe S, Tsuruoka S, Vijayakumar S, Fischer G, Zhang Y, Fujimura A, Al-Awqati Q, Schwartz GJ.	Cyclosporin produces distal renal tubular acidosis by blocking peptidyl cis-trans prolyl isomerase activity of cyclophilin.	Am J Physiol Renal Physiol	288	F40-F47	2005
Ando H, Tsuruoka S, Yamamoto H, Takamura T, Kaneko S, Fujimura A.	Regulation of cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase mRNA expression in C57BL/6 mice fed an atherogenic diet.	Atherosclerosis	178	265-269	2005
Tsuruoka S, Schwartz GJ, Ioka T, Yamamoto H, Ando H, Fujimura A.	Citrate reverses Cyclosporin A-induced metabolic acidosis and bone resorption in rat.	Am J Nephrol	25	233-239	2005
Tsuruoka S, Wakaumi M, Ioka T, Yamamoto H, Ando H, Sugimoto K, Fujimura A.	Angiotensin II receptor blocker-induced blunted taste sensitivity: comparison of candesartan and valsartan.	Br J Clin Pharmacol	60	204-207	2005
Wang N, Tsuruoka S, Yamamoto H, Enosawa S, Omasa T, Sata N, Matsumura T, Nagai H, Fujimura A.	The bioreactor with CYP3A4- and glutamine synthetase-introduced HepG2 cells: Treatment of hepatic failure dog with diazepam overdose.	Artif Org	29	681-684	2005
Ando H, Yanagihara H, Hayashi Y, Obi Y, Tsuruoka S, Takamura T, Kaneko S, Fujimura A.	Rhythmic mRNA expression of clock genes and adipocytokines in mouse visceral adipose tissue.	Endocrinology	146	5631-5636	2005
Ando H, Tsuruoka S, Yanagihara H, Sugimoto K, Miyata M, Yamazoe Y.	Effects of grapefruit juice on the pharmacokinetics of pitavastatin and atorvastatin.	Br J Clin Pharmacol.	60	494-497	2005

Takamura T, Kaneko S, Fujimura A.					
Tsuruoka S, Wakaumi M, Araki N, Ioka T, Sugimoto K, Fujimura A	Comparative study of taste disturbance by losartan and perindopril in healthy volunteers.	J Clin Pharmacol	45	1319-1323	2005
Wakaumi M, Ishibashi K, Ando H, Kasanuki H, Tsuruoka S.	Acute digoxin loading reduces ABCA8 mRNA expression in mouse.	Clin Exp Pharmacol Physiol	32	1034-1041	2005
Suzuki K, Wang R, Kubota H, Shibuya H, Saegusa J, Sato T.	Kinetics of biglycan, decorin and thrombospondin -1 in mercuric chloride-induced renal tubulointerstitial fibrosis.	Exp Mol Pathol	79	68-73	2005
Kim JS, Kubota H, Sakai T, Doi K, Saegusa J.	Electron microscopic study of subcapsular cell hyperplasia in the adrenal glands of IQI/Jic mice.	Exp Anim	54	107-110	2005
<u>Kuroda A.</u>	A Polyphosphate-Lon Protease Complex in the Adaptation of Escherichia colito Amino Acid Starvation	Biosci Biotech Biochem		In press	2005
黒田章夫、滝口昇、加藤純一、大竹久夫	リン資源枯渇の危機予測とそれに対応したリン有効利用技術開発	環境バイオテクノロジー学会誌	4	87-94	2005

# 医療用バイオマイクロ燃料電池への 取り組み

西澤 松彦

東北大学大学院工学研究科 教授

## はじめに

ICタグが象徴する電子機器の超小型化と省電力化を反映して、熱(温度差)や振動、糖分など身の回りに分散している低密度エネルギーを有効利用するためのユビキタス発電システムへの期待が高まっており、バイオマイクロ燃料電池に関する研究も国内外で活発である<sup>1)~3)</sup>。その特徴は生体触媒(酵素)の利用であり、酵素が中性の水溶液中で働くため、生体や環境に馴染む安全設計が可能である。また、酵素が有する高度な反応特異性によって、セパレータが不要となり、身近な燃料溶液(たとえばジュースやお酒)を精製せずに直接利用できる可能性もある。ヒトの体液(血液や組織液など)も糖分を相当量含むため、これらを燃料溶液とする皮膚パッチ型、さらに埋め込み型の医療用マイクロ燃料電池の開発が検討されている<sup>3),4)</sup>。

本稿では、まず、酵素を利用するバイオマイクロ燃料電池について、医療関連の発電システムとしての位置づけと世界の研究動向を概説して技術開発のポイントを整理する。そして、筆者らが取り組んでいる酵素電極の開発方針、特徴、性能について紹介する。さらに、バイオマテリアルや微細加工など、医療応用を指向したバイオマイクロ燃料電池の開発に欠かせない周辺技術の進展を解説する(図1)。

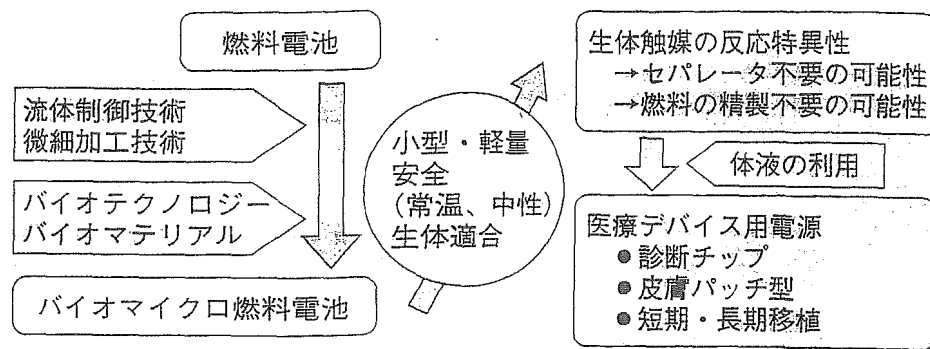


図1 医療用バイオマイクロ燃料電池の位置づけと周辺技術

## 医工学における小型電源

小型化に有利で天然の燃料をそのまま使える安全な発電システム“バイオマイクロ電池”、そのメリットが最も活きる領域の1つは医療、特に埋め込み電源としての利であろう。ペースメーカーや人工内耳、神経刺激によるパーキンソン病や心不全の治療痛や化学療法のための薬剤投与デバイス、人工眼の開発など、すでに実用化しているから、いまだ緒についたばかりのものまで、多様な埋め込み型医療デバイスの開発研加速している<sup>5)</sup>。これら医療デバイスのいずれにおいても、電力の供給は重要な課題り、電源のサイズや性能がデバイス全体の形状や応用形態を左右するケースが少なくない<sup>5),6)</sup>。ペースメーカーには20年来リチウム-ヨウ素電池が用いられており、数マイアンペアの電流パルスを生10年以上安定に発生する信頼性を得ている<sup>6),7)</sup>。ミリアンペルの電流を要する他のデバイスへは、カップリングコイルの誘導起電力を利用し、から高周波で電力供給する技術が盛んに検討されている<sup>5),8)</sup>。体温で発電するバイオマル電池の検討も行われている。バイオマイクロ燃料電池は、これら電源システムのシヨンの1つであるが、体液を内部に取り込んで利用するために格別の生体親和性がられ、実用化のためには医学・生化学をはじめとする広域な分野の知識と技術の結集する。

血液に代表される体液中のエネルギー源として、主にグルコースが想定されているの血中濃度は通常約5 mM程度に調節されており、皮下組織のグルコース濃度はこれ薄いとされる<sup>9)</sup>。乳酸(約1 mM)やコレステロールなども燃料分子の候補となり得る極活性が十分に高く、グルコースの供給律速である場合の反応電流密度は、~2 mA程度と推算されている(直径0.4 cmの血管にシリンダ状の電極が埋め込まれ、血流